



广谱抗病基因挖掘新模式

陈学伟

四川农业大学, 西南作物基因资源发掘与利用国家重点实验室, 成都 611130

E-mail: xwchen88@163.com

Optimization of broad-spectrum disease resistance

Xuewei Chen

State Key Laboratory of Crop Gene Exploration and Utilization in Southwest China, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

E-mail: xwchen88@163.com

doi: [10.1360/TB-2023-0633](https://doi.org/10.1360/TB-2023-0633)

据国际粮农组织数据, 全球人口到2050年将超过90亿, 届时粮食产量需增加70%才能满足人口增长的需求, 因此, 粮食安全问题依然形势严峻(https://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/expert_paper/How_to_Feed_the_World_in_2050.pdf). 水稻是世界一半以上人口的主食, 生产中面临稻瘟病、稻曲病、纹枯病及白叶枯病等多种病害威胁. 由稻瘟病菌引起的稻瘟病被称为“水稻癌症”(图1), 我国每年因稻瘟病导致的粮食损失高达30亿公斤. 培育和种植抗病品种是防治病害最经济有效的措施, 但生产中品种的专化抗性致使抗病品种在推广3~5年后就丧失抗性^[1]. 因此, 挖掘广谱持久抗病基因, 进而培育抗病且不影响产量的作物品种对保障粮食安全具有重要意义. 过去几十年, 抗病育种已经取得较大进展. 研究发现水稻广谱抗病基因 *bsr-d1* 编码一个 C_2H_2 转录因子, 其启动子区关键碱基变异增强且与 MYB 型转录因子的结合, 降低了 H_2O_2 降解酶的表达, 增强了活性氧的产生, 最终增强了水稻的抗病性^[2]. 水稻 *ROD1* 作为重要的免疫控制分子, 通过调控侵染前后活性氧的水平来控制免疫与产量的平衡^[3]. 大麦 *mlo* 突变体广谱抗病但其产量微弱降低, 而小麦中通过基因编辑获得的新型 *Tamlo-R32* 突变体广谱抗病且产量稳定, 并且 *MLO* 在不同植物中功能保守具有很好的应用潜力^[4]. 现阶段 *Xa21*、*bsr-d1*、*IPa1*、*pigm*、*ROD1*、*UMPI*、*Lr34*、*PsIPK1* 和 *mlo* 等少数作物广谱抗病基因应用于农业生产中^[2-11]. 扩大并挖掘作物广谱抗病基因来源仍是抗病育种中亟需解决的问题.

植物类病斑突变体是指在没有病原菌侵染以及逆境损伤情况下自发产生超敏反应形成类似病斑的突变体. 类病斑突变体在水稻、玉米、小麦、拟南芥、大豆等植物中广泛存在^[12,13]. 类病斑突变体通常表现为强抗病性, 是研究植物抗



图1 (网络版彩色)田间条件下稻瘟病发病情况

Figure 1 (Color online) Rice blast in the field

病重要的材料, 但过强的免疫反应常造成植物生长发育以及产量受损, 导致这类材料在植物抗病育种中尚未得到很好应用. 对类病斑突变体基因快速改造、优化以及研究其如何在

抗病育种中应用具有重要理论价值及实践意义。最近,华中农业大学李国田教授团队联合国内外多家单位的研究成果很好地展示了如何将类病斑突变体基因应用到抗病育种当中^[14]。

李国田教授团队在早期构建的水稻突变体库中筛选到一个对稻瘟病菌和白叶枯菌都具有良好抗性的类病斑突变体 $rbl1$ ^[15]。经全基因组测序快速精准鉴定到 $RBL1$ 基因(LOC_Os01g55360)在内含子和外显子连接区域的29个碱基对缺失并造成第九个外显子的缺失^[14],该基因编码一个胞苷二磷酸-二酰甘油合成酶。经遗传互补验证发现 $RBL1$ 突变是导致 $rbl1$ 突变体产生类病斑的原因。通过脂质组学分析发现 $rbl1$ 突变体磷脂酰肌醇含量下降71%,体外补充磷脂酰肌醇以及过表达磷脂酰肌醇合成酶基因 $OsPIS1$ 能够部分回补 $rbl1$ 突变体的表型,表明 $RBL1$ 通过调控磷脂酰肌醇的生物合成来控制程序性细胞死亡和免疫,以上结果与在果蝇中研究结果一致^[16]。综合多种技术发现 $rbl1$ 突变体膜上 $PI(4,5)P_2$ 含量相比野生型减少。进一步观察发现 $PI(4,5)P_2$ 在稻瘟病菌侵染初期被迅速招募到稻瘟病菌侵染菌丝周围,这与白粉菌侵染时期 $PI(4,5)P_2$ 作为感病因子的亚细胞定位相似^[17]。有趣的是,作者发现 $PI(4,5)P_2$ 在稻瘟病菌效应蛋白分泌结构活体营养界面复合体(biotrophic interfacial complex, BIC)高度富集,他们进一步统计了野生型和突变体中BIC形成情况,发现 $rbl1$ 突变体中BIC形成率为16.7%,相比野生型中BIC形成率93.3%显著下降,并且稻瘟病菌侵染菌丝周围的 $PI(4,5)P_2$ 荧光强度也明显减弱。以上结果说明 $PI(4,5)P_2$ 可能在稻瘟病菌与水稻的互作中发挥重要作用。在卵菌侵染时期,研究也发现磷脂分子 $PI3P$ 富集在植物细胞的细胞膜外帮助效应蛋白进入植物细胞^[18]。这些结果暗示磷脂分子帮助效应蛋白进入细胞可能存在一种保守的机制。在植物中, $PI(4,5)P_2$ 由磷脂酰肌醇磷酸激

酶合成,但其在抗病中的功能尚未被解释清楚。由于BIC是在稻瘟病菌与水稻互作过程中形成的特异侵染结构,作者猜测通过微调这种特异侵染结构的形成可能是平衡产量和免疫的一种新策略。该研究为未来通过微调这种侵染结构增强作物抗病研究提供了一个很好的研究起点。

类病斑突变体的研究绝大多数还停留在基础研究阶段,而快速发展的基因编辑技术在作物抗病育种中极具潜力^[19]。 $rbl1$ 突变体虽然具有广谱抗病的特性但是生长和产量受损。为了优化 $RBL1$ 基因的抗病能力,李国田教授团队经过对 $RBL1$ 基因编码区多位点进行编辑,筛选获得了一个新基因 $RBL1^{412}$, $rbl1^{412}$ 株系只在成株期呈现微弱的类病斑表型。研究发现, $RBL1^{412}$ 基因显著增强了水稻对稻瘟病菌、白叶枯菌以及稻曲菌多个生理小种的抗病性。大田试验分析发现, $rbl1^{412}$ 株系稳产且兼具抗稻瘟病能力,在稻瘟病严重发生时能够挽救约40%的产量损失,因此 $RBL1^{412}$ 在抗病育种中展现出巨大应用潜力。初步研究表明该基因在不同作物如小麦、玉米等作物中高度保守,也为小麦、玉米等粮食作物以 $RBL1$ 为靶标的抗病基因编辑提供了借鉴。

李国田教授团队通过将诱变技术与全基因组测序技术结合快速克隆了类病斑突变体基因 $RBL1$,并且通过基因编辑技术创制了新的广谱抗病材料,为其他类病斑突变体或者极端表型基因的研究和应用提供了一种新的研究模式,并缩短了育种年限。该成果对扩大广谱抗病基因来源,推动作物抗病育种、植物病害绿色防控,保障国家粮食安全有重要意义。此外,类病斑突变体的研究对植物细胞程序性死亡、光合作用以及植物免疫的理解同样发挥重要推动作用。Sha等人^[14]的研究工作表明 $PI(4,5)P_2$ 等磷脂分子在稻瘟病菌-水稻互作中发挥重要作用,为作物抗性和产量平衡研究提供了一个潜在方向。

参考文献

- 1 Pennisi E. Armed and dangerous. *Science*, 2010, 327: 804–805
- 2 Li W, Zhu Z, Chern M, et al. A natural allele of a transcription factor in rice confers broad-spectrum blast resistance. *Cell*, 2017, 170: 114–126.e15
- 3 Gao M, He Y, Yin X, et al. Ca^{2+} sensor-mediated ROS scavenging suppresses rice immunity and is exploited by a fungal effector. *Cell*, 2021, 184: 5391–5404.e17
- 4 Li S, Lin D, Zhang Y, et al. Genome-edited powdery mildew resistance in wheat without growth penalties. *Nature*, 2022, 602: 455–460
- 5 Song W Y, Wang G L, Chen L L, et al. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21*. *Science*, 1995, 270: 1804–1806
- 6 Deng Y, Zhai K, Xie Z, et al. Epigenetic regulation of antagonistic receptors confers rice blast resistance with yield balance. *Science*, 2017, 355: 962–965
- 7 Wang J, Zhou L, Shi H, et al. A single transcription factor promotes both yield and immunity in rice. *Science*, 2018, 361: 1026–1028
- 8 Hu X H, Shen S, Wu J L, et al. A natural allele of proteasome maturation factor improves rice resistance to multiple pathogens. *Nat Plants*, 2023, 9: 228–237
- 9 Krattinger S G, Lagudah E S, Spielmeier W, et al. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science*, 2009, 323: 1360–1363
- 10 Wang N, Tang C, Fan X, et al. Inactivation of a wheat protein kinase gene confers broad-spectrum resistance to rust fungi. *Cell*, 2022, 185: 2961–

2974.e19

- 11 Büschges R, Hollricher K, Panstruga R, et al. The barley mlo gene: A novel control element of plant pathogen resistance. *Cell*, 1997, 88: 695–705
- 12 Kang S G, Lee K E, Singh M, et al. Rice lesion mimic mutants (LMM): The current understanding of genetic mutations in the failure of ROS scavenging during lesion formation. *Plants*, 2021, 10: 1598
- 13 Xiaobo Z, Mu Z, Mawsheng C, et al. Deciphering rice lesion mimic mutants to understand molecular network governing plant immunity and growth. *Rice Sci*, 2020, 27: 278–288
- 14 Sha G, Sun P, Kong X J, et al. Genome editing of a rice cdp-dag synthase confers multipathogen resistance. *Nature*, 2023, 618: 1017–1023
- 15 Li G, Jain R, Chern M, et al. The Sequences of 1504 Mutants in the model rice variety kitaake facilitate rapid functional genomic studies. *Plant Cell*, 2017, 29: 1218–1231
- 16 Laurinyecz B, Péter M, Vedelek V, et al. Reduced expression of cdp-dag synthase changes lipid composition and leads to male sterility in *Drosophila*. *Open Biol*, 2016, 6: 50169
- 17 Qin L, Zhou Z, Li Q, et al. Specific recruitment of phosphoinositide species to the plant-pathogen interfacial membrane underlies Arabidopsis susceptibility to fungal infection. *Plant Cell*, 2020, 32: 1665–1688
- 18 Kale S D, Gu B, Capelluto D G S, et al. External lipid PI3P mediates entry of eukaryotic pathogen effectors into plant and animal host cells. *Cell*, 2010, 142: 284–295
- 19 Gao C. Genome engineering for crop improvement and future agriculture. *Cell*, 2021, 184: 1621–1635